

**PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis L*)
TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus
musculusL*) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Pendidikan
Dokter Fakultas Kedokteran**

Oleh :

ALDYAN MUHARRAM ATMADJA
J 500 140 016

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L)
TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus
musculus*L) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**

PUBLIKASI ILMIAH


Oleh:

ALDYAN MUHARRAM ATMADJA

J 500 140 016

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Retno Sintowati M.Sc
NIK. 1005

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L) TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*L) YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

Oleh :

**ALDYAN MUHARRAM ATMADJA
J 500 140 016**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji




Fakultas Kedokteran

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Pada hari Sabtu, 20 Januari 2018

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Dr. Iin Novita NM, M.Sc. Sp.PD (.....) 
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dr. Budi Hernawan, M.Sc (.....) 
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Dr. Retno Sintowati M.Sc (.....) 
(Pembimbing Utama)

Dekan,



Prof/DR. Dr. EM Sutrisna, M.Kes. 

NIK: 919

PERNYATAAN

Dengan ini Penulis menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan Penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, yang tertulis dalam naskah ini kecuali disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 20 Januari 2018.

Penulis



ALDYAN MUHARRAM ATMADJA

J 500 140 016

**Pengaruh Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L) Terhadap
Morfologi Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* L) Yang Diberi
Paparan Asap Rokok**

Abstrak

Teh hijau dipercaya sebagai sumber antioksidan, seperti yang ditemukan pada buah dan sayuran. Teh sangat kaya akan flavon, asam fenolik dan depsides. Teh juga mengandung flavonoid, senyawa yang dilaporkan memiliki sifat antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L) terhadap morfologi spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L) yang diberi paparan asap rokok. Penelitian ini menggunakan metode *posttest only with control group design*. Subyek penelitian ini adalah ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L). Mencit jantan (*Mus musculus* L) digunakan sebagai sampel. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L) dengan konsentrasi 1,25 %, 2,5 % dan 5 % diuji efek penghambatan kerusakan morfologi mencit jantan (*Mus musculus* L). Dengan jumlah mencit 5 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, P1, P2 dan P3. Kemudian diamati dan dihitung morfologi spermatozoa yang abnormal dan yang normal. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L) dengan aktivitas antioksidan yang efektif terhadap menghambat kerusakan morfologi spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L) dalam konsentrasi 1,25 %, 2,5 % dan 5 %. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* L) dengan konsentrasi 1,25 %, 2,5 % dan 5 % efektif menghambat kerusakan morfologi spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L).

Keyword : Flavonoid, Antioksidan, Morfologi, *Camellia sinensis* L, *Mus musculus* L.

Abstract

Green tea is believed to be a source of antioxidants, as found in fruits and vegetables. Tea is rich in flavones, phenolic acids and depsides. Tea also contains flavonoids, a compound that is reported to have antioxidant properties. This study to determine the effect of green tea leaf extract (*Camellia sinensis* L) of the morphology of male mice spermatozoa (*Mus musculus* L) which is exposed to cigarette smoke. This research uses posttest only with control group design method. The subjects of this study were green tea leaf extract (*Camellia sinensis* L). Male mice (*Mus musculus* L) were used as samples. Green tea leaf extract (*Camellia sinensis* L) with concentrations of 1.25%, 2.5% and 5% tested the inhibitory effect of morphological damage of male mice (*Mus musculus* L). With the number of mice 5 tail, divided into 5 groups of normal control group, negative control, P1, P2 and P3. Then observed and calculated abnormal and normal morphology of spermatozoa. Green tea leaf extract (*Camellia sinensis* L) with effective antioxidant activity to inhibit morphological damage of male mice spermatozoa (*Mus musculus* L) in concentrations of 1.25%, 2.5% and 5%. Green tea leaf extract (*Camellia sinensis* L) with concentration of 1,25%, 2,5% and 5%

effective inhibiting morphological damage of male mice spermatozoa (*Mus musculus L*).

Keyword : Flavonoid, Antioxidants, Morphology, *Camellia sinensis L*, *Mus musculus L*

1. PENDAHULUAN

Rokok mengandung lebih dari empat ribu bahan kimia, 43 bahan yang sudah diketahui menyebabkan kanker. Lebih dari lima juta orang meninggal setiap tahun. Rata – rata orang yang terbunuh oleh rokok adalah 35 – 69 tahun. Data epidemi tembakau di dunia menunjukan tembakau/rokok membunuh lebih dari lima juta orang setiap tahunnya, dan bila berlanjut. Diperkirakan tahun 2020 akan terjadi sepuluh juta kematian, dengan 70 persen terjadi di negara berkembang. Tingginya konsumsi dan populasi rokok di Indonesia menduduki peringkat ke-5 dunia setelah China, Amerika Serikat, Rusia dan Jepang dengan perkiraan konsumsi 220 milyar batang pada tahun 2005(Depkes, 2009).

Beberapa penelitian telah melaporkan dampak negatif dari paparan asap rokok, salah satunya dapat menurunkan kuantitas dan kualitas (jumlah, motilitas dan morfologi) dari spermatozoa dan menyebabkan kerusakan sel-sel sperma. Parameter sperma manusia berkorelasi dengan durasi merokok, menunjukkan bahwa perokok memiliki volume semen lebih rendah, jumlah sperma, motilitas sperma dan kelangsungan hidup dibandingkan dengan non-perokok. Perokok menunjukkan peningkatan leukosit mani, persentase sperma oval, spermatozoa head-piece persentase cacat dan spermatozoa dengan tetesan sitoplasma. Patofisiologi yang tepat yang mendasari merokok dan sperma memburuk tidak jelas (Putri, 2015).

Masyarakat sekarang cenderung memanfaatkan pengobatan tradisional atas kesadaran untuk kembali ke alam sebagai bagian dari penerapan pola hidup alami. Kekayaan tumbuhan obat yang tersedia mendukung pemanfaatan pengobatan tradisional, salah satunya tanaman teh (*Camellia sinensis L*) yang merupakan tanaman yang secara tradisional telah lama

dikenal masyarakat sebagai tanaman bahan dasar pembuatan minuman teh. Berdasarkan cara pengolahannya dikenal beragam teh, di antaranya ialah teh hitam dan teh hijau(Abdurrahmat, 2007).

Manfaat teh hijau yang sudah terbukti adalah : sebagai antioksidan, kesehatan mulut, kesehatan mata, untuk mencegah obesitas, rambut rontok, antibakteri, antivirus, melindungi dari penyakit kardiovaskuler, terapi untuk parkinson dan penyakit alzheimer (Jigisha, 2012).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium. Peneliti memberikan perlakuan terhadap sampel, yaitu berupa hewan uji yang telah ditentukan dan akan dilakukan di laboratorium dengan metode *posttest only controlled grup design*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fakultas Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta untuk determinasi, kebun teh Kemuning Tawangmangu Jawa Tengah untuk pengambilan daun teh hijau, dan laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta untuk percobaan dan pembuatan ekstrak teh hijau, pada bulan September 2017. Pada penelitian ini sampel yang akan menjadi fokus penelitian adalah mencit yang dipapar oleh asap rokok. Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu dengan cara memilih mencit jantan (*Mus musculus L*) yang sehat, memiliki berat antara ± 20 gram, dan berumur 2-3 bulan. Dengan jumlah mencit 5 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (diberikan aquades), kontrol negatif (diberikan 1 batang rokok + aquades), perlakuan 1 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 1.25 %), perlakuan 2 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 2.5 %) dan perlakuan 3 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 5 %).

Pemaparan asap rokok dengan cara rokok dibakar dan asapnya ditiup menggunakan kipas dan diarahkan ke saluran pipa, dimana pipa tersebut mengarah ke kandang mencit. Kandang mencit didesain khusus tanpa ventilasi kecuali lubang pipa, sehingga sebagian besar asap rokok tersebut

dapat dihirup oleh mencit. Pemaparan asap rokok ditunggu sampai rokok kretek telah habis dan ditunggu sekitar 5 menit agar asap yang didalam kandang tidak banyak menyebar. Saluran pipa dibuka lagi agar mencit dapat bernafas secara normal. Perlakuan dilakukan dari hari ke-1 hingga hari ke-34.

Pada hari ke 35, dilakukan pengambilan sperma mencit dengan cara memisahkan cauda epididimis dengan memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi 1 ml NaCl 0,9%, bagian proksimal cauda dipotong, lalu ditekan perlahan hingga sekresi cairan epididimis keluar dan tersuspensi dengan NaCl 0,9%. Diamati dan dihitung morfologi spermatozoa yang abnormal dan yang normal, kemudian dihitung persentasenya dengan kriteria jumlah morfologi yang normal $\geq 30\%$ dari jumlah sperma yang abnormal, mempunyai panjang $\pm 10\ \mu\text{m}$ dari ujung kepala sampai ujung ekor, ukuran kepala $\pm 3\ \mu\text{m}$ dan berbentuk runcing pada bagian ujungnya atau berbentuk seperti pisang.

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

3.1 HASIL

Tabel 1. Uji Normalitas Data

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
morfologi	K Normal	.254	5	.200*	.803	5	.086
	K -	.250	5	.200*	.850	5	.196
	P1	.271	5	.200*	.932	5	.611
	P2	.198	5	.200*	.951	5	.742
	P3	.347	5	.048	.857	5	.217

Tabel 2. Uji Homogenitas Varian

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.574	4	20	.685

Tabel 3. Uji One-way ANOVA

morfologi sperma

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5730.640	4	1432.660	82.432	.000
Within Groups	347.600	20	17.380		
Total	6078.240	24			

Tabel 4. Hasil Analisis Uji Statistik LSD

Kelompok Perlakuan	Nilai p	Hasil Uji
KNormal-K(-)	0,000*	Berbeda bermakna
KNormal-P1	0,168	Berbeda tidak bermakna
KNormal-P2	0,805	Berbeda tidak bermakna
KNormal-P3	0,384	Berbeda tidak bermakna
K(-)-P1	0,008*	Berbeda bermakna
K(-)-P2	0,000*	Berbeda bermakna
K(-)-P3	0,002*	Berbeda bermakna
P1-P2	0,253	Berbeda tidak bermakna
P1-P3	0,596	Berbeda tidak bermakna
P2-P3	0,530	Berbeda tidak bermakna

*berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Sumber: Data Primer, 2017

Hasil dari uji *post hoc* LSD perbedaan rata-rata data antar kelompok:

- a. KNormal - K (-): 0,000 maka terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif.
- b. KNormal -P1: 0,168 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan 1.
- c. KNormal -P2: 0,805 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan 2.
- d. KNormal -P3: 0,384 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan 3.
- e. K (-) -P1: 0,008 maka terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 1.
- f. K (-) -P2: 0,000 maka terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 2.

- g. K (-) -P3: 0,002 maka terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 3.
- h. P1-P2: 0,253 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.
- i. P1-P3: 0,596 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 3.
- j. P2-P3: 0,530 maka terdapat perbedaan yang tidak bermakna antar kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3.

3.2 PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. Pada penelitian ini sampel yang akan menjadi fokus penelitian adalah mencit yang dipapar oleh asap rokok. Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu dengan cara memilih mencit jantan (*Mus musculus L*) yang sehat, memiliki berat antara ± 20 gram, dan berumur 2-3 bulan. Dengan jumlah mencit 5 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (diberikan aquades), kontrol negatif (diberikan 1 batang rokok + aquades), perlakuan 1 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 1.25 %), perlakuan 2 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 2.5 %) dan perlakuan 3 (diberikan 1 batang rokok + ekstrak daun teh hijau 5 %). Penelitian ini dilakukan selama 35 hari. Penelitian ini melihat langsung sperma mencit di mikroskop. Cara pengambilan sperma mencit menggunakan pisau bedah untuk memisahkan cauda epididimis dengan memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 1 ml NaCl 0,9% , ditetaskan di object glass dan ditutup dengan kaca penutup untuk kemudian diamati.

Interpretasi hasil morfologi dilihat dari normal tidaknya sperma. Sperma normal memiliki kepala, leher, dan ekor dengan panjang $\pm 10 \mu\text{m}$ dari ujung kepala sampai ujung ekor, dan ukuran kepala $\pm 3 \mu\text{m}$ yang

berbentuk runcing pada bagian ujungnya atau berbentuk seperti pisang. Abnormal sperma memiliki kelainan pada bentuk spermatozoanya, contoh abnormal sperma seperti berikut :

1. Piri : Spermatozoa yang memiliki kepala seperti gambaran “tetesan air mata” dengan ujung yang menitik pada midpiece/berbentuk buah pear
2. Lepto : kepala kurus, lebar $\frac{1}{2}$ dari normal
3. Macro : kepala spermatozoa yang berbentuk oval 25% lebih besar dari kepala normal
4. Micro : kepala spermatozoa yang berbentuk oval 25% lebih kecil dari kepala normal
5. Tail defect : spermatozoa yang memiliki ekor pendek ($< 9x$ panjang kepala), ekor berbentuk spiral atau ekor ganda

Pada penelitian ini didapatkan kelainan morfologi seperti Lepto, Macro, Micro dan Tail defect yang berekor ganda. Gambar morfologi terdapat pada lampiran 10 yang dilingkari warna merah.

Berdasarkan hasil *One-wayANOVA* dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) mempunyai nilai signifikan yaitu $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa morfologi spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus L*) mempunyai pengaruh yang signifikan. Maka ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mempengaruhi morfologi spermatozoa pada hewan uji. Oleh karena hasil uji *One-way ANOVA* signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

Pada hasil Uji *LSD* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna signifikan terhadap kelompok kontrol normal dan kontrol negatif yaitu dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Pada perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3 juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan masing-masing nilai $p<0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) pada kelompok perlakuan 1 (dosis 1,25%), perlakuan 2 (dosis

2,5%), dan perlakuan 3 (dosis 5%) mampu memperbaiki morfologi spermatozoa dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Konsentrasi 2,5 % merupakan konsentrasi yang paling baik. Urutan konsentrasi yang paling baik yaitu 2,5 %, 5 % dan 1,25 %.

Penurunan pada kualitas spermatozoa disebabkan Stres Oksidatif yang diakibatkan oleh adanya peningkatan ROS (Reactive Oxygen Species) dari asap rokok. Penurunan jumlah spermatozoa ini juga terjadi akibat dari kandungan zat kimia pada asap rokok seperti nikotin, tar, karbondioksida sehingga berpotensi untuk menimbulkan peningkatan produksi radikal bebas (Hoesada *et al.* 2016) yang akan mengakibatkan kerusakan DNA dan pada akhirnya terjadi apoptosis spermatozoa. Sehingga akan terjadi penurunan kualitas spermatozoa (Claudia *et al.* 2013).

Teh sangat kaya akan flavon, asam fenolik dan depsides, karbohidrat, alkaloid, mineral, vitamin dan enzim. Teh juga mengandung flavonoid, senyawa yang dilaporkan memiliki sifat anti oksidan memiliki banyak efek menguntungkan (Senanayake, 2013).

Hal ini didukung penelitian Agustina (2015) bahwa kandungan teh hijau tersebut dapat memperbaiki morfologi spermatozoa yang rusak karena terdapat senyawa katekin dan flavonoid di dalam teh hijau yang berperan sebagai antiradiasi, antioksidan, antikanker, dan antimikroba. Pada penelitian Abshenas (2011) bahwa teh hijau dapat memperbaiki kualitas spermatozoa yang rusak. Pada penelitian Das (2015) bahwa perubahan bentuk histologi dan fungsi testis yang rusak menjadi baik. Kandungan teh hijau tersebut memperbaiki morfologi spermatozoa mencit, tergantung pada pemberian dosisnya.

Kendala dari penelitian ini adalah keterbatasan alat yang dimiliki untuk mengambil keseluruhan dari sperma mencit, sehingga pengambilan sperma mencit tidak menyeluruh. Kelemahan dan kekurangan dari penelitian ini adalah pada teknik pengambilan sperma. Teknik yang

digunakan pada penelitian ini hanya mengambil sebagian sperma sehingga hasil pengamatan menjadi kurang sempurna.

4. PENUTUP

Kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun teh hijau (*Camellia Sinensis L*) mampu mempengaruhi morfologi spermatozoa setelah pemaparan asap rokok secara signifikan dengan konsentrasi 2,5% yang memberikan efek paling baik dibandingkan dengan konsentrasi 1,25 % ataupun 5 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahmat, A. S. (2007). *Pengaruh Ekstrak Daun Teh (Camellia sinensis) Terhadap Jumlah Spermatozoa Hidup Mencit (Mus musculus L)*. Universitas Siliwangi: Skripsi.
- Abshenas, J., Babaei, H., Zare, M. H., Allahbakhshi, A., & Sharififar, F. (2011). The effects of green tea (*Camellia sinensis*) extract on mouse semen quality after scrotal heat stress. *VRF Volume 2 Nomor 4*, 242-7.
- Agustina, S. N. (2015). *Efek Pemberian Ekstrak Daun Teh (Camellia sinensis) Terhadap Analisis Semen, Diameter Tubulus Seminiferus, Dan Kadar Malondialdehyde (MDA) Testis Mencit Balb/c Setelah Dipapar Monosodium Glutamate (MSG)*. Universitas Airlangga: Tesis.
- Akbar, B. (2010). *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Banerjee, S., & Chatterjee, J. (2014). Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. *J Food Sci Technol Volume 1 Nomor 6*, 1-11.
- Batubara, I. V., Wantouw, B., & Tendean, L. (2013). Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *e-Biomedik (eBM) Volume 2 Nomor 1*, 330-7.
- Chemes, H. E., & Rawe, V. Y. (2003). Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. *Human Reproduction Update Volume 6 Nomor 3*, 405-28.
- Das, S. K., & Karmakar, S. N. (2015). Effect of green tea (*camellia sinensis l.*) leaf extract on reproductive system of adult male albino rats. *IJPPP Volume 7 Nomor 4*, 178-84.

- Depkes. (2009). *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. Dipetik 7 22, 2017, dari [www.depkes.go.id: http://www.depkes.go.id/article/print/447/rokok-membunuh-lima-juta-orang-setiap-tahun.html](http://www.depkes.go.id/article/print/447/rokok-membunuh-lima-juta-orang-setiap-tahun.html).
- Deyhoul, N., Mohamaddoost, T., & Hosseini, M. (2017). Infertility-Related Risk Factors. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences Volume 5 Nomor 1*, 24–9.
- George, P., Anastasia, M., & Papafloratos, S. (2014). Effects of Smoking on Cardiovascular Function: The Role of Nicotine and Carbon Monoxide. *HEALTH SCIENCE JOURNAL Volume 3 Nomor 1*, 274-90.
- Helena, O. (2010). Evaluation of in vivo reproductive toxicity of potassium chromate in male mice. *Experimental and Toxicologic Pathology Volume 6 Nomor 2*, 391–404.
- Jighisa, A., Nishant, R., Navin, K., & Pankaj, G. (2012). Green Tea: A Magical Herb With Miraculous Outcomes. *INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY Volume 3 Nomor 5*, 139-48.
- Maya, M. N., Seth, F. R., Boerman, T., Vanderpoel, S., & Gretchen, S. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLOS Medicine Volume 9 Nomor 12*, 1-12.
- Nordqvist, C. (2016). Infertility: Causes, Diagnosis, Risks, Treatments. *medical news today*, hal. 1.
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Volume 5 Nomor 2*, 115-9.
- Putri, A. (2015). Efek Vitamin C Terhadap Kualitas Spermatozoa Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *J MAJORITY Volume 4 Nomor 1*, 1-4.
- Reygaert, W. C. (2017). An Update on the Health Benefits of Green Tea. *Beverages Volume 3 Nomor 6*, 1-14.
- Saraswati, A. (2015). Infertility. *J MAJORITY Volume 4 Nomor 1*, 5-9.
- Senanayake, S. N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties. *Journal of Functional Foods Volume 1 Nomor 3*, 1-13.
- Setyawan, M. E., Romadhon, Y. A., Sintowati, R., Sutrisna, E., Nugraha, Y. O., & Afwan, F. M. (2017). The effect of Kalimantan's Honey Propolis Toward The Quality of Mice's (*Mus Musculus L*) Spermatozoa That Exposed By Cigarette Smoke. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research Volume 7 Nomor 2*, 70-5.
- Sharma, G. N. (2010). Various Types And Management Of Breast Cancer: An Overview 1(2). *JAPTR*, 109-26.

Taufiqqurohman, M. A. (2008). *Metodologi Penelitian Kedokteran untuk Ilmu Kesehatan*. Surakarta: CSGF.

Venkatesh, N. (2013). Impact of Smoking: Influence on the Society and Global Business. *International Journal of Business and Management Invention Volume 6 Nomor 3*, 46-53.

WHO. (2010). *WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen*. Switzerland: WHO Press, World Health Organization.